

Untersuchungen über *Bacterien*.

V.

Die **Aetiologie der Milzbrand-Krankheit**, begründet auf die
Entwicklungsgeschichte des *Bacillus Anthracis*.

Von
Rochert
Dr. Koch,
Kreisphysikus in Wollstein.

Hierzu Tafel XI.



I. *Einleitung*. Seit dem Auffinden der stäbchenförmigen Körper im Blute der an Milzbrand gestorbenen Thiere hat man sich vielfach Mühe gegeben, dieselben als die Ursache für die direkte Uebertragbarkeit dieser Krankheit ebenso wie für das sporadische Auftreten derselben, also als das eigentliche Contagium des Milzbrands nachzuweisen. In neuerer Zeit hatte sich hauptsächlich Davaine mit dieser Aufgabe beschäftigt und gestützt auf zahlreiche Impfversuche mit frischem oder getrocknetem stäbchenhaltigen Blute, mit aller Entschiedenheit dahin ausgesprochen, dass die Stäbchen *Bacterien* seien und nur beim Vorhandensein dieser *Bacterien* das Milzbrandblut die Krankheit von Neuem zu erzeugen vermöge. Die ohne nachweisbare direkte Uebertragung entstandenen Milzbranderkrankungen bei Menschen und Thieren führte er auf die Verschleppung der, wie er entdeckt hatte, im getrockneten Zustande lange Zeit lebensfähig bleibenden *Bacterien* durch Luftströmungen, Insekten und dergl. zurück. Die Verbreitungsweise des Milzbrandes schien hiermit vollständig klar gelegt zu sein.

Dennoch fanden diese von Davaine aufgestellten Sätze von verschiedenen Seiten Widerspruch. Einige Forscher wollten nach Impfung mit bacterienhaltigem Blute tödlichen Milzbrand erzielt

haben, ohne dass sich nachher Baeterien im Blute fanden, und umgekehrt liess sich wieder durch Impfung mit diesem baeterienfreien Blute Milzbrand hervorrufen, bei welchem Baeterien im Blute vorhanden waren. Andere machten darauf aufmerksam, dass der Milzbrand nicht allein von einem Contagium abhänge, welches oberhalb der Erde verbreitet werde, sondern dass diese Krankheit in einem unzweifelhaften Zusammenhange mit Bodenverhältnissen stehe. Wie würde sonst zu erklären sein, dass das endemische Vorkommen des Milzbrandes an feuchten Boden, also namentlich an Flussthåler, Sumpfdistrikte, Umgebungen von Seen gebunden ist; dass ferner die Zahl der Milzbrandfälle in nassen Jahren bedeutender ist und sich hauptsächlich auf die Monate August und September, in welchen die Curve der Bodenwärme ihren Gipfelpunkt erreicht, zusammendrängt, dass in den Milzbranddistricten, sobald die Heerden an bestimmte Weiden und Tränken geführt werden, jedesmal eine grössere Anzahl von Erkrankungen unter den Thieren eintritt.

Diese Verhältnisse sind allerdings durch die Annahme Davaine's nicht zu erklären und das Ungenügende derselben hat zur Folge gehabt, dass von Vielen die Bedeutung der Baeterien für den Milzbrand ganz geleugnet ist.

Da ich einige Male Gelegenheit hatte, Thiere, welche an Milzbrand gefallen waren, zu untersuchen, so benutzte ich diese zu einer Reihe von Versuchen, welche zur Aufklärung der eben angedeuteten dunklen Punkte in der Milzbrandätiologie beitragen sollten. Hierbei kam ich sehr bald zu der Ueberzeugung, dass die Davaine'sche Theorie über die Verbreitungsweise des Milzbrandes nur zum Theil richtig ist.

Es zeigte sich nämlich, dass die Ståbchen des Milzbrandblutes bei Weitem nicht so resistent sind, als Davaine seinen Versuchen entnehmen zu müssen glaubte. Wie ich später nachweisen werde, bewahrt das Blut, welches nur Ståbchen enthält, seine Impffähigkeit im getrockneten Zustande nur wenige Wochen und im feuchten nur einige Tage. Wie sollten also so leicht vergångliche Organismen das oft während des ganzen Winters und im feuchten Boden vielleicht Jahrelang schlummernde Contagium des Milzbrandes bilden? Hier blieb, wenn die Baeterien wirklich die Ursache des Milzbrandes abgeben, nichts anderes übrig als anzunehmen, dass sie durch einen Generationswechsel in einen anderen gegen abwechselndes Eintrocknen und Anfeuchten unempfindlichen Zustand übergehen können, oder, was weit mehr Wahrscheinlichkeit hat und was von Prof. Cohn schon im zweiten Hefte, Band I. dieser Beiträge p. 145, angedeutet wurde,

dass die *Bakterien* Sporen bilden, welche die Fähigkeit besitzen, nach längerem oder kürzerem Ruhezustande von Neuem zu *Bakterien* auszuwachsen.

Alle meine weiteren Versuche gingen nun dahin, diesen vermuteten Entwicklungszustand der Milzbrandbakterien aufzufinden. Nach manchen vergeblichen Bemühungen gelang es denn auch schliesslich dieses Ziel zu erreichen und damit die wahre Milzbrandätiologie in ihren Grundzügen festzustellen.

Da die Entwicklungsgeschichte der Milzbrandbakterien nicht nur botanisches Interesse bietet, sondern auch manches Licht auf die bis jetzt so dunkle Aetiologie der vom Boden abhängigen Infectionskrankheiten zu werfen im Stande ist, so habe ich es jetzt schon, obwohl meine Versuche noch nicht abgeschlossen sind, unternommen, die wichtigsten Resultate derselben zu veröffentlichen.

II. *Entwicklungsgeschichte des Bacillus Anthracis.* Die Milzbrandbakterien gehören nach Prof. F. Cohn's System der *Schizophyten*¹⁾ zur Gattung *Bacillus* und sind mit dem speciellen Namen *Bacillus Anthracis* belegt, dessen ich mich im Folgenden statt des viel umfassenden Ausdrucks *Bakterien* bedienen werde.

1. Im Blute und in den Gewebssäften des lebenden Thieres vermehren sich die Bacillen ausserordentlich schnell in derselben Weise, wie es bei verschiedenen andern Arten *Bakterien* beobachtet ist, nämlich durch Verlängerung und fortwährende Quertheilung.

Es ist mir allerdings nicht gelungen, diesen Vorgang direct zu sehen; derselbe lässt sich aber aus den schon häufig vorgenommenen und von mir in folgender Weise wiederholten Impfversuchen schliessen. Als sehr bequemes und leicht zu habendes Impfobjekt benutzte ich meistens Mäuse. Anfangs impfte ich dieselben an den Ohren oder in der Mitte des Schwanzes, fand aber diese Methode unsicher, da die Thiere durch Reiben und Lecken das Impfmateriale entfernen können; später wählte ich als Impfstelle den Rücken der Schwanzwurzel, wo die Haut schon verschiebbar und mit langen Haaren bedeckt ist. Die in einem verdeckten grossen Glase sitzende Maus wird zu diesem Zwecke mit einer langen Pincette am Schwanz gefasst und letzterer aus einer schmalen Spalte zwischen Deckel und Glasrand so weit hervorgezogen, dass bequem ein flacher querverlaufender Einschnitt in die Haut des Schwanzwurzelrückens gemacht und ein möglichst kleines Tröpfchen der bacillenhaltigen Flüssigkeit

¹⁾ Band I, Heft 3 dieser Beiträge p 202.

in die kleine Wunde gebracht werden kann. In dieser Weise ausgeführte Impfungen, welche ich in grosser Zahl gemacht habe, hatten ausnahmslos ein positives Resultat, sobald ganz frische Milzbrand-Substanzen angewandt wurden; und ich glaube deswegen eine derartige Impfung, je nach ihrem Erfolg, als ein sicheres Reagens auf das Leben oder Abgestorbensein der Bacillen ansehen zu können: eine Ansicht, welche durch andere, später zu erwähnende Versuche als richtig erwiesen wird.

Theils nun, um immer mit frischem Material versehen zu sein, theils aber auch um zu prüfen, ob nicht nach einer bestimmten Zahl von Generationen die Bacillen in eine andere Form übergehen, wurden mehrere Male Mäuse in aufeinanderfolgender Reihe geimpft, so dass ohne Unterbrechung die folgende Maus immer mit der Milzsubstanz der kurz vorher an Milzbrand gestorbenen inficirt wurde. Die längste dieser Reihen betrug zwanzig Mäuse, so dass also eben so viele Bacillengenerationen vorlagen; aber bei sämtlichen Thieren ergab sich derselbe Befund; immer war die Milz erheblich geschwollen und mit zahllosen Mengen von glashellen Stäbchen gefüllt, welche geringe Grössendifferenzen hatten, unbeweglich waren und keine Sporenbildung oder dergleichen zeigten. Dieselben Bacillen fanden sich auch, aber bei weitem nicht so zahlreich als in der Milz, im Blute. Bei diesem Versuche hatten sich also durch viele Generationen aus wenigen Bacillen immer wieder bedeutende Massen ebenso gestalteter Individuen derselben Art entwickelt und da man unter diesen neu entstandenen Bacillen viele mit einer beginnenden Quertheilung in ihrer Mitte, manche an dieser Stelle geknickte und noch andere unter einem Winkel lose zusammenhängende erblickt, so lässt sich wohl eine andere Weise ihrer Vermehrung als durch Verlängerung und Quertheilung, nachdem sie ungefähr die doppelte Länge erreicht haben, kaum annehmen. Es dürfte aber auch nach diesem Resultat schwerlich zu erwarten sein, dass durch noch längere Reihen von Impfungen eine Formveränderung der Bacillen erreicht werden, oder dass man schliesslich auf einen Generationswechsel derselben treffen könnte. Auch in dem der Impfstelle benachbarten serös infiltrirten Unterhautzellgewebe und in den nächsten Lymphdrüsen fand ich bei Kaninchen und Meerschweinchen nur kurze und in der Theilung begriffene Stäbchen.

Die Vertheilung der Bacillen im Körper der geimpften Thiere ist nicht immer gleichmässig. Bei Meerschweinchen enthielt das Blut ausserordentlich viele Bacillen, so dass ihre Zahl oft derjenigen der rothen Blutkörper gleichkam oder sie selbst übertraf; im Blute

der Kaninchen sind sie erheblich weniger zahlreich, oft so selten, dass man mehrere Gesichtsfelder durchmustern muss, ehe man einige findet; bei Mäusen enthält das Blut stets eine so geringe Zahl Bacillen, dass sie manchmal zu fehlen scheinen¹⁾. Dafür findet man bei Kaninchen die Bacillen um so reichlicher und sicherer in den Lymphdrüsen und in der Milz, und bei Mäusen in erstaunlicher Menge in der Milz. Einigemale habe ich die Marksubstanz der Tibia von Mäusen untersucht, aber nur vereinzelt Bacillen darin gefunden.

Auf weitere hierher gehörige Details über die Lagerung der Bacillen im Gewebe der Milz, in den Blutgefäßen, über ihre Anhäufungen in den Capillaren und kleinen Venen und die dadurch bedingten lokalen Oedeme, Gefässerreissungen und Blutaustritte vermag ich wegen des rein pathologischen Interesses dieser Verhältnisse hier nicht weiter einzugehen.

Ebenso würde es zu weit führen, die Frage nach der eigentlichen Todesursache der an Milzbrand sterbenden Thiere zu erörtern, ob dieselben durch die bei dem intensiven Wachsthum der Bacillen im Blute entwickelte Kohlensäure oder, was wohl wahrscheinlicher ist, durch giftig wirkende Spaltprodukte der von den Parasiten zu ihrer Ernährung verbrauchten Eiweisskörper getödtet werden.

2. Im Blute des todten Thieres oder in geeigneten andern Nährflüssigkeiten wachsen die Bacillen innerhalb gewisser Temperaturgrenzen und bei Luftzutritt zu ausserordentlich langen, unverzweigten *Leptothrix*-ähnlichen Fäden aus, unter Bildung zahlreicher Sporen.

Am einfachsten überzeugt man sich von der Richtigkeit dieses Satzes durch folgendes Experiment:

Auf den Objectträger wird ein Tropfen von möglichst frischem Rinderblutserum oder *Humor aqueus* von Rinderaugen gebracht, in diesen ein kleines Stückchen frische bacillenhaltige Milzsubstanz eingetragen und das Deckgläschen so darauf gelegt, dass die Bacillennasse ungefähr in die Mitte des Präparats zu liegen kommt. Hierauf wird der Objectträger, um die Verdunstung der Flüssigkeit zu verhüten, sofort in einen feuchten Raum gebracht und mit diesem in den Brütkasten gestellt²⁾.

¹⁾ Derartige Fälle haben wahrscheinlich, wenn nur das Blut der mit Milzbrand geimpften Thiere untersucht wurde, zur früher erwähnten Ansicht geführt, dass Milzbrand, ohne dass Bacillen im Blute sich finden, vorkomme und dass man durch Impfung mit bacillenfremem Blute wieder Milzbrand erzeugen könne.

²⁾ Als feuchten Raum benutzte ich flache mit nassem Sand gefüllte Teller; auf dem Sand lag eine Schicht Filtrirpapier und auf diesem die Präparate.

Der Wassergehalt der Luft in dem feuchten Raum muss so regulirt werden, dass die Flüssigkeit nicht unter dem Deckglase hervordringt und dass das Serum am Rande des Deckglases nicht eintrocknet. Im ersteren Falle werden die Bacillen unter dem Deckgläschen weggeschwemmt und entgehen der Beobachtung, im letzteren wird durch die trockne Randschicht des Serums die Luft von den Bacillen abgesperrt und jede weitere Entwicklung derselben damit verhindert.

Die so zubereiteten Präparate bleiben 15—20 Stunden im Brütapparat bei einer Temperatur von 35—37°. Bei einer alsdann vorgenommenen Untersuchung finden sich in der Mitte des Präparats (Taf. XI. Fig. 1) zwischen den noch gut erhaltenen Zellen der Milzpulpa und den Blutkörperchen (a, b) noch viele unveränderte Bacillen, jedoch in geringerer Zahl als im frischem Präparate. Sobald man aber die Mitte des Präparates verlässt, trifft man auf Bacillen, welche um das 3—8fache verlängert sind und dabei einige leichte Knickungen und Krümmungen zeigen (Fig. 2). Je näher man nun dem Rande des Deckglases kommt, um so längere Fäden findet man, welche vielfach gewunden sind und schliesslich die hundert- und mehrfache Länge der ursprünglichen Bacillen erreichen (Fig. 3). Viele dieser langen Fäden haben ihre gleichmässige Struktur und ihr glashelles Aussehen verloren, ihr Inhalt ist fein granulirt und stellenweis treten in demselben kleine stärker lichtbrechende Körnchen in regelmässigen Abständen auf (Fig. 3a). In den dicht am Rande befindlichen Fäden, welche also in Bezug auf den Gasaustausch in der Nährflüssigkeit am günstigsten liegen, ist die Entwicklung am weitesten vorgeschritten; sie enthalten vollständig ausgebildete Sporen, welche in der Gestalt von etwas länglich runden,

Der Teller wurde mit einer Glasplatte bedeckt. Wenn die Sandschicht so hoch ist, dass der Abstand zwischen der Oberfläche der Präparate und der unteren Seite der Glasplatte $\frac{1}{2}$ bis 1 Ctm. beträgt, dann bleiben die Präparate genügend feucht. Der von mir angewandte Brütapparat, welcher sechs auf einander gestellte Teller mit Präparaten aufnehmen konnte, wurde in Ermangelung von Gas durch eine mit Cylinder versehene Petroleumlampe erwärmt. Allen, welche ohne Gas oder ohne Regulator derartige Versuche mit dem Brütapparat unternehmen wollen, kann ich diese Methode der Heizung nicht genug empfehlen. Da man mit einer kleinen Flamme einen grossen Apparat genügend erwärmen kann, so ist bei einem einigermaßen grossen Petroleumreservoir der Lampe nur nöthig, dieselbe ungefähr täglich einmal zu füllen und die Höhe der Flamme für die gewünschte Temperatur richtig anzuprobiren, um ohne besondere Mühe oder Aufsicht fortwährend eine kaum um 1—2° schwankende Temperatur zu haben.

stark lichtbrechenden Körpern in ganz regelmässigen kurzen Abständen der Substanz der Fäden eingelagert sind (Fig. 4a). In dieser Form gewähren die Fäden, namentlich wenn sie in vielfach verschlungenen und um einander gewundenen Linien gruppiert sind, einen überraschenden Anblick, der sich am besten mit demjenigen höchst zierlicher, künstlich angeordneter Perlschnüre vergleichen lässt.

Manche Fäden sind auch schon in der Auflösung begriffen und ihre frühere Gestalt nur noch durch die reihenförmige Lagerung der von einer schleimigen Binde substanz zusammen gehaltenen Sporen angedeutet. Dazwischen liegen dann bisweilen einzelne freie und kleine Häufchen zusammen geballter Sporen (Fig. 4b). In einem einzigen solchen gut gelungenen Präparate sind also alle Uebergänge von dem kurzen Bacillusstäbchen bis zu langen sporenhaltigen Fäden und freien Sporen vertreten und es könnte damit schon der Beweis dafür gebracht sein, dass letztere aus ersteren hervorgegangen sind. Trotzdem ich anfangs diesen Versuch mehrfach wiederholte und immer wieder zu demselben Resultate kam, stiegen mir doch verschiedene Bedenken gegen die Richtigkeit dieser Annahme auf. Wie kamen die Bacillen, an denen ich bis dahin keine selbständige Bewegung wahrgenommen hatte, an den Rand des Präparates, während die Blutkörperchen in der Mitte liegen blieben? Konnten die langen sporenhaltigen Fäden nicht möglicherweise am Rande der Flüssigkeit durch aus der Luft dahin gelangte Keime entstanden sein? Denn gegen eine derartige Verunreinigung aus der Luft waren die Präparate nicht geschützt und in der That wucherten neben den Fäden auf diesem Wege oft die schönsten Colonien von *Micrococcus* und *Bacterium* in das Präparat hinein; einigemale erschien auch eine der unsrigen ähnliche Bacillusart. Hier kam also Alles darauf an, vollständige Sicherheit zu erlangen und nicht in einen Fehler zu verfallen, welcher leider schon so oft bei Culturversuchen mit den niedersten Organismen von erfahrenen Forschern begangen ist und durch welchen die Untersuchungen auf diesem Gebiete in neuerer Zeit etwas in Misseredit gekommen sind. Ich meine den Fehler, ähnliche Formen, welche in derselben Nährflüssigkeit zu gleicher Zeit oder kurz nacheinander entstanden und zugleich mit scheinbaren Uebergangsformen vermischet sind, ohne Weiteres als verschiedene Entwicklungsstadien desselben Organismus zu erklären.

Da mir die Bedingungen für die Entwicklung des *Bacillus Anthracis* bekannt waren, nämlich die Nährflüssigkeit, die Temperatur bei welcher er wächst und die Nothwendigkeit der Luftzufuhr, so versuchte ich auf dem Mikroskopisch diese Erfordernisse herzu-

stellen, um so direkt die Veränderung der Bacillen beobachten zu können.

So schwierig ich mir anfangs die Ausführung dieses Versuches vorgestellt hatte, so einfach gestaltete er sich in der Wirklichkeit. Nach manchem missglücktem Experiment fand ich folgende Methode als die zweckmässigste:

Als Wärmequelle diente ein M. Schulze'scher heizbarer Objectisch, welchen ich, ebenso wie früher vom Brütapparat angegeben ist, mit einer Petroleumlampe erwärmte. Das Mikroskop muss allerdings auf einen Untersatz gestellt werden, um die Lampe, welche mit einem flachen, aus Blech gearbeiteten Petroleumreservoir versehen ist, mit ihrem Cylinder unter den Arm des heizbaren Objectisches zu bringen. Eine einzige kleine Flamme, ungefähr unter der Mitte des einen Arms stehend, genügte bei meinem Apparat, um tagelang den Objectisch auf der erforderlichen Temperatur zu erhalten. Der feuchte, lufthaltige Raum wurde von einem durch das Deckglas geschlossenen hohlgeschliffenen Objectträger ersetzt (Fig. 6). Das den Bacillen hierdurch für ihre Entwicklung gewährte Luftquantum ist sehr gering, aber wie die Erfahrung lehrt, genügt es zum Gelingen des Versuches. Um nun die richtige Temperatur für die von mir angewandte Sorte von hohlgeschliffenen Objectträgern zu finden, benutzte ich den Schmelzpunkt von Rindertalg, welcher im Wasserbade auf ziemlich genau 40° bestimmt war. Von diesem vorher geprüften Rindertalg wurde ein Tröpfchen auf ein Deckglas gebracht und dieses durch eine rings um die Höhlung des Objectträgers gepinselte Schicht Provencèröl luftdicht, und zwar mit dem Talgtröpfchen nach unten gerichtet, auf den Hohlraum des Objectträgers aufgesetzt. Es ergab sich dabei, dass der Objectisch auf 45° erwärmt werden musste, um den Tropfen unter dem Deckglase eben zum Schmelzen zu bringen. Für die zu meinen Versuchen erforderliche Temperatur genügte es also, den Objectisch so zu heizen, dass sein Thermometer dauernd auf 40° zeigte. Zu gleicher Zeit musste es auffallen, dass eine Annäherung des Tubus, wie sie zur Einstellung eines Objectes für Hartnack Obj. 7 Ocul. 3, welche ich bei diesen Untersuchungen benutzte, erforderlich ist, jedesmal stark abkühlend wirkte und die Temperatur in dem Tropfen um 5 bis 8° herabsetzte. Nach diesen Ermittlungen brachte ich auf die untere Seite des Deckglases einen Tropfen frisches Rinderblutserum oder, was sich für diesen Versuch noch viel besser bewährte, einen Tropfen ganz frischen und möglichst reinen *Humor aqueus* von Rinderaugen. Der Tropfen darf natürlich nur so dick sein, dass

man noch alle seine Schichten mit dem Mikroskop durchmustern kann¹⁾. Hierauf wurde in den Rand des Tropfens eine möglichst geringe Menge ganz frischer bacillenhaltiger Milzsubstanz eingetragen und das Deckgläschen sofort auf den mit Oel bestrichenen Objectträger gelegt. Der kleine Hohlraum füllt sich schnell mit Wasserdampf und die anfängliche Verdunstung des Tropfens ist so gering, dass nur am äussersten Rand einige Bacillen vertrocknen; später behält der Tropfen tagelang unverändert seine Gestalt. Das so hergerichtete Präparat wurde nun auf den geheizten Objecttisch gebracht und nachdem die Strömungen in der sich erwärmenden Flüssigkeit sich gelegt hatten, einige mehr nach dem Innern des Tropfens zu gelegene Bacillen fixirt, rasch noch ihre Form und Lage gezeichnet und dann der Tubus hinaufgeschoben, um eine ungleichmässige und zu lange Abkühlung des Präparates zu vermeiden. Bei der nun folgenden alle 10 bis 20 Minuten vorgenommenen Untersuchung wurde wahrgenommen, dass die Bacillen anfangs etwas dicker werden und anscheinend aufquellen, sich aber in den ersten beiden Stunden kaum merklich ändern. Dann aber beginnt ihr Wachsthum. Schon nach 3 bis 4 Stunden haben sie die 10—20fache Länge erreicht, sie fangen sich an zu krümmen, gegenseitig zu verdrängen oder geflechtartig durcheinander zu schieben. Nach einigen weiteren Stunden sind die einzelnen Fäden schon so lang, dass sie durch mehrere Gesichtsfelder reichen; sie gleichen einem Haufen Glasfäden, welche nach Art von Schlingpflanzen sich in der verschiedensten Weise bald zu langen parallelen Zügen oder zu äusserst zierlichen spiralförmig gedrehten Bündeln vereinigen, bald aber in den unregelmässigsten Figuren zu einem unentwirrbaren Knäuel verschlingen,

¹⁾ Unter verschiedenen Arten hohlgeschliffener Objectträger fand ich am bequemsten einen von 3 Mm. Dicke, welcher, beiläufig bemerkt, 60 Mm. lang und 20 Mm. breit ist. Seine obere Fläche ist matt geschliffen; der Hohlraum hat die Form eines Kugelabschnittes, einen Durchmesser von 14 Mm. und eine Tiefe von 1,5 Mm. Hartnack'sche Deckgläschen von 18 Mm. Quadrat und 0,15 Mm. Dicke lassen sich auf solchen Objectträgern sehr gut durch Oel luftdicht befestigen. Dem Tropfen auf der unteren Seite des Deckglases gab ich einen Durchmesser von ungefähr 5—7 Mm., so dass er vom Oel ringsum ungefähr noch 3—5 Mm. entfernt bleibt und dieses ihn, selbst wenn es unter dem Deckglas etwas nach innen fliesst, nicht leicht erreichen kann. Zu Kulturversuchen im Brütapparat habe ich Objectträger mit einem darauf befestigten Paraffinring sehr praktisch gefunden, man kann sich dieselben, in jeder beliebigen Grösse und Form, leicht selbst anfertigen und ganz in derselben Weise wie hohlgeschliffene Objectträger benützen.

so dass es ganz unmöglich wird, den einzelnen Faden in seiner ganzen Länge weiter zu verfolgen.

Betrachtet man das freie Ende eines Fadens andauernd durch längere Zeit, etwa 15 bis 20 Minuten, dann vermag man leicht die fortwährende Verlängerung desselben direct wahrzunehmen und kann sich so das merkwürdige Schauspiel von dem sichtbaren Wachsen der Bacillen verschaffen und die unmittelbare Ueberzeugung von ihrer Weiterentwicklung gewinnen. Schon nach 10 bis 15 Stunden erscheint der Inhalt der kräftigsten und am üppigsten gewachsenen Fäden fein granulirt und bald scheiden sich in regelmässigen Abständen sehr kleine mattglänzende Körnchen ab, welche sich nach einigen weiteren Stunden zu den stark lichtbrechenden eirunden Sporen vergrössern. Allmählich zerfallen dann die Fäden, zerbröckeln an ihren Enden, die Sporen werden frei, sinken dem Gesetze der Schwere folgend in die unteren Schichten des Tropfens und sammeln sich hier in dichten Haufen an. In diesem Zustande bleibt dann das Präparat wochenlang unverändert. Die auf der Tafel XI. befindlichen Abbildungen geben ein möglichst getreues Bild (Fig. 1—4) von den eben geschilderten verschiedenen Entwicklungsstufen des *Bacillus Anthracis*.

Auch in den Präparaten, welche nach dieser Methode angefertigt und behandelt wurden, traten bisweilen verschiedenartige Bacterien in grossen Schwärmen und ruhenden Colonien als ungebetene Gäste auf und störten die Beobachtung der späteren Entwicklungsstadien des *Bacillus Anthracis*. Sobald man aber eine grössere Anzahl von Präparaten mit einiger Sorgfalt unter Anwendung von möglichst frischem, reinem *Humor aqueus* oder Blutserum und unmittelbar dem todten Thierkörper entnommener Milzsubstanz anfertigt und in den Brütapparat bringt, wird man mindestens in der Hälfte, öfter in allen, bei wiederholter Untersuchung eine vollkommene reine Cultur von Milzbrandbacillen finden. Bleibt unter den im Vorhergehenden angegebenen Bedingungen die Entwicklung der Bacillen ganz aus, oder wachsen letztere nur kümmerlich und kommen nicht zur Sporenbildung, dann liegt irgend ein Fehler in der Anordnung des Experimentes vor. Auf welche Kleinigkeiten es hierbei unter Umständen ankommt, mag man daraus erschen, dass mir anfangs manche Culturen missglückten, weil ich alle Deckgläschen nach dem Gebrauch in eine Carbolsäurelösung legte und trotz sorgfältiger Reinigung durch den Geruch erkennbare Spuren von Carbolsäure bisweilen an den Gläschen haften blieben. Erst nachdem ich mich durch Controlversuche davon überzeugt hatte, dass schon so äusserst geringe

Mengen der Carbolsäure genügten, um die Cultur der Bacillen zu stören und demgemäss die Gläschen immer durch mehrfaches Abspülen von der Carbolsäure vollständig gereinigt hatte, blieb ich von diesen Misserfolgen verschont. Später wollte es mir einmal durchaus nicht mehr gelingen, die Fäden zur Sporenbildung zu bringen; sie wuchsen in eigenthümlichen gekräuselten, ziemlich langen Formen, verkümmerten aber schliesslich, nachdem sie nur vereinzelte oder gar keine Sporen angesetzt hatten. Ich suchte vergeblich den Grund in fehlerhafter Beschaffenheit des Wärmeapparates, der Nährflüssigkeit und dergl. Endlich fiel es mir auf, dass das zum Schliessen des Präparates benutzte Oel nach flüchtigen Fettsäuren roch und als ich nun zu gleicher Zeit mehrere Präparate genau in gleicher Weise anfertigte, aber für einige ranziges Oel, für andere tadelloses Provençeröl zum Befestigen des Deckglases gebrauchte, kamen die Bacillen in letzteren zur vollkommensten Sporenbildung, in ersteren zeigten sich nur spärliche Sporen. Da mir diese Wirkung der flüchtigen Fettsäuren, oder vielleicht nur einer bestimmten Säure, welche nicht einmal direct mit dem die Bacillen enthaltenden Tropfen in Berührung kamen, sondern nur durch ein sehr geringes Quantum ihrer Dämpfe darauf einwirken konnten, sehr merkwürdig erschien, so wiederholte ich diesen Versuch zu verschiedenen Zeiten und erhielt immer dasselbe Resultat.

3. Die Sporen des *Bacillus Anthracis* entwickeln sich unter gewissen Bedingungen (bestimmte Temperatur, Nährflüssigkeit und Luftzutritt) wieder unmittelbar zu den ursprünglich im Blute vorkommenden Bacillen. Dass die in den langen Fäden gebildeten glänzenden Körperchen in der That Sporen sind und nicht etwa zufällige Zersetzungsproducte oder Rückstände der absterbenden ausgewachsenen Bacillen, liess sich wohl schon von vorn herein nach Analogie der Entwicklungsgeschichten anderer Organismen aus der Reihe der Pilze und Algen mit Bestimmtheit annehmen. Später zu erwähnende Impfversuche mit Flüssigkeiten, welche nur Sporen von *Bacillus Anthracis* und keine Spur von Bacillen oder Fäden mehr enthielten und doch im Stande waren, mit derselben Sicherheit, wie mit frischen Bacillen Milzbrand zu erzeugen, bestätigten diese Vermuthung. Um aber einen vollständigen Einblick in den Lebenslauf des *Bacillus Anthracis* zu gewinnen und namentlich zu erfahren, ob die Sporen durch eine Zwischenform, etwa eine im Wasser lebende Schwärmospore, oder direct und in welcher Art und Weise wieder in die Bacillen übergehen, war es das Gerathenste, den einmal betretenen Weg weiter

zu verfolgen. Womöglich musste erreicht werden, die Keimung der Sporen künstlich unter Verhältnissen vor sich gehen zu lassen, welche eine directe mikroskopische Beobachtung gestatten.

Alle Bemühungen, die Sporen in destillirtem Wasser und Brunnenwasser zur Fortentwicklung bei gewöhnlicher Temperatur oder bei 35° zu bringen, schlugen fehl. In Blutserum oder *Humor aqueus* nach der früher beschriebenen Methode in geschlossenen Zellen und im Brütapparat versuchte Culturen führten nur zu unvollkommenen Resultaten; es entwickelten sich unzweifelhafte Bacillen, welche zu langen Fäden auswuchsen und Sporen ansetzten; aber ihre Zahl war gering und der Uebergang einzelner Sporen in die Bacillen liess sich in dem Sporenhaufen nicht mit genügender Sicherheit verfolgen. Schliesslich schlug ich folgendes Verfahren ein, welches zum Ziele führte. Es wurden aus Präparaten, welche nach mikroskopischer Prüfung eine ganz reine Cultur von *Bacillus Anthracis* enthielten und nachdem die langen Fäden ganz oder grösstentheils zerfallen waren, Tröpfchen mit Sporenmassen entnommen, auf ein Deckglas gebracht und theilweise dicht neben dem Rande desselben, theilweise mehr nach der Mitte zu schnell eingetrocknet. Dieses Eintrocknen hat den Zweck, dass die Sporenhäufchen zusammengehalten und nicht von der Nähr-Flüssigkeit auseinandergeschwemmt und zu sehr zerstreut werden. Die Sporenmassen blieben einige Stunden oder selbst Tage trocken; alsdann wurde auf einen gewöhnlichen (nicht hohl geschliffenen) Objectträger ein der Grösse des Deckglases entsprechender Tropfen *Humor aqueus* gebracht und das Deckglas so aufgelegt, dass die Sporenmassen von der Flüssigkeit benetzt wurden. Das Präparat, welches also nicht mit Oel abgeschlossen wird, kam in den früher beschriebenen feuchten Raum und mit diesem in den Brütapparat, welcher eine Wärme von 35° hatte.

Nach einer halben Stunde fingen die hier und da noch zwischen den Sporen liegenden Reste der ausgewachsenen Fäden an, vollständig zu zerfallen und nach ungefähr 1½ bis 2 Stunden waren sie verschwunden.

Schon nach 3—4 Stunden war eine Entwicklung der Sporen zu bemerken.

In den Sporenhäufchen am Rande des Deckglases war sie am weitesten fortgeschritten; denn sie hatten sich schon fast ganz in Fäden verwandelt; während nach der Mitte des Präparates zu alle Uebergänge von diesen Fäden bis zu den einfachen Sporen sich fanden. Nach Beobachtungen an zahlreichen derartigen Präparaten gestaltet sich der Vorgang bei der Sporenentwicklung folgendermassen.

Bei genauer Untersuchung mit stärkeren Vergrößerungen (z. B. Hartnack immers. 9) erscheint jede Spore von eiförmiger Gestalt und in eine kuglige glashelle Masse eingebettet, welche wie ein heller schmaler, die Sporen umgebender Ring aussieht, deren kuglige Form aber beim Rollen der Sporen nach verschiedenen Richtungen leicht zu erkennen ist. Diese Masse verliert zuerst ihre Kugelgestalt, sie verlängert sich in der Richtung der Längsachse der Sporen nach der einen Seite hin und wird langgezogen eiförmig. Die Spore bleibt dabei in dem einen Pol des kleinen walzenförmigen Körpers liegen. Sehr bald wird die glashelle Hülle länger und fadenförmig und zu gleicher Zeit fängt die Spore an ihren starken Glanz zu verlieren, sie wird schnell blass und kleiner, zerfällt wohl auch in mehre Parteen, bis sie schliesslich ganz verschwunden ist. In Fig. 5 ist ein solcher Sporenhaufen mit den Uebergängen zu Fäden nach einem solchen Präparate wiedergegeben.

Später ist es mir auch oft gelungen in demselben Präparat und in demselben Tropfen *Humor aqueus* aus den Bacillen die Sporen und sofort aus diesen wieder eine zweite Generation von sporenhaltigen Fäden zu erziehen. Wenn nämlich nur wenige Bacillen in den Tropfen gelangten, hatte sich, wie auch sonst, ungefähr nach 20—24 Stunden die Sporenbildung vollzogen; das Nährmaterial war aber noch nicht verbraucht und einige Stunden später wuchsen die Sporen schon wieder zu Bacillen und diese zu Fäden aus.

Namentlich in derartigen Präparaten konnte der Uebergang der Sporen zu den Bacillen mit Sicherheit beobachtet werden; die Fig. 5 b. ist einem solchen Präparat entnommen und Herr Prof. F. Cohn hatte die Güte, diese Zeichnung unter Anwendung einer Vergrößerung mit Seibert immers. VIII. selbst anzufertigen. Aus diesen höchst einfachen Formveränderungen der Spore bei ihrer Keimung geht also hervor, dass sie aus einem stark lichtbrechenden Tröpfchen, vielleicht einem Oel, besteht, welches von einer dünnen Protoplasmaschicht eingehüllt ist. Letztere ist die eigentliche entwicklungsfähige Zellsubstanz, während ersteres vielleicht einen bei der Keimung zu verbrauchenden Reservestoff bildet.

Mit dieser letzten Reihe von Untersuchungen ist der Kreis, welcher von den Formveränderungen des *Bacillus Anthracis* gebildet wird, geschlossen und damit die vollständige Entwicklungsgeschichte desselben gegeben.

Da in den letzten Jahren oft die wunderbarsten Beobachtungen und die widersprechendsten Ansichten über krankheitserregende *Schizophyten* veröffentlicht sind und deswegen, wie ich schon früher

andeutete, Arbeiten dieser Art sowohl von Botanikern als Aerzten mit einem wohl berechtigten Misstrauen aufgenommen werden, so mache ich nochmals besonders darauf aufmerksam, dass es sich bei meinen Untersuchungen nicht um eine zufällige, vereinzelte Beobachtung, sondern um möglichst oft wiederholte, mit vollständig sicherem Erfolg zu jeder Zeit anzustellende Experimente handelt.

Um Jeden, der ein Interesse für die Sache hat, in den Stand zu setzen, ohne Schwierigkeit sich selbst durch den Augenschein von der Richtigkeit des Resultates meiner Untersuchungen zu überzeugen, habe ich die oft durch mühevoll und zeitraubende Versuche gewonnenen Methoden, nach denen ich gearbeitet habe, möglichst genau beschrieben. Ganz besonderes Gewicht lege ich übrigens noch darauf, dass Herr Prof. F. Cohn sich auf meine Bitte, der mich zu besonderem Danke verpflichtenden Mühe unterzog, meine Angaben über die Entwicklungsgeschichte des *Bacillus Anthracis* eingehend an einer Reihe von Präparaten und von mir im pflanzenphysiologischen Institut zu Breslau angestellten Experimenten zu prüfen und in allen Punkten zu bestätigen.

Die auf die Anthraxbacillen bezügliche Literatur ist mir nur theilweise zugänglich gewesen und ich muss daher auf eine vollständige Angabe derselben verzichten. Nur einige Arbeiten, welche mir erst nach Auffindung der Entwicklungsgeschichte des *Bacillus Anthracis* zur Kenntniss kamen, möchte ich mit einigen Worten berühren. Bollinger¹⁾ meint, dass die Bacillen aus Reihen von Kugelbakterien zusammengesetzt sind, in welche sie gelegentlich zerfallen, und dass diese Kugelbakterien allein im Blute vorkommen, sich durch Theilung vermehren und zu Reihen vereinigt wieder Stäbchen bilden können. Fast könnte es hiernach scheinen, als ob Bollinger auch die Sporenbildung gesehen hätte. Doch ist dies nicht der Fall, denn er giebt an, nur einmal Bacillen von 0,05 Mm. Länge gesehen zu haben, eine Grösse, bei welcher die Bacillen noch nicht zur Sporenbildung kommen. Auch die l. c. p. 465 gegebene Abbildung enthält nur abgestorbene Bacillen, auf deren Form ich später zurückkomme.

Im dritten Heft des ersten Bandes dieser Beiträge p. 200 äussert F. Cohn bei der Besprechung der eben angeführten Angaben Bollinger's, dass er die Milzbrandstäbchen dennoch für Bacillen halte und dass man nach Analogie anderer Bacillen eine Fortpflanzung derselben durch kugelige Dauersporen erwarten müsse; eine Ver-

¹⁾ Ziemssen's Handb. der spec. Pathol. und Therap. Bd. 3. p. 464.

muthung, welche sich sehr bald verwirklicht hat. Die neueste Veröffentlichung über Milzbrandbacterien, welche von C. O. Harz herührt, enthält nach dem mir vorliegenden Referat (Allgem. med. Centralzeitung 1876 No. 33) nur negative Resultate, welche den von mir erhaltenen positiven gegenüber ihre Bedeutung verlieren müssen.

III. *Biologie des Bacillus Anthracis.* Die Möglichkeit, den *Bacillus Anthracis* unter künstlichen Verhältnissen zu sporenhaltigen Fäden und seine Sporen wieder zu Bacillen zu entwickeln, beweist natürlich noch nicht, dass das Vorkommen des Milzbrandes unter allen Umständen auf die verschiedenen Entwicklungsformen dieser Bacterienart zurückgeführt werden müsse. Da er im lebenden Organismus, wie früher gezeigt wurde (allerdings vorläufig nur für die Thierspecies, mit welcher experimentirt wurde, beweisend), sich nicht weiter entwickelt, so kann nur durch Versuche über das Verhalten des *Bacillus Anthracis* unter Bedingungen, welchen er auf seinem muthmasslichen Wege nach dem Absterben des von ihm bewohnten Thieres unterworfen ist, eine Aufklärung hierüber gesucht werden.

Um nicht zu ausführlich zu werden, muss ich die sehr umfangreichen in dieser Richtung angestellten Versuchsreihen kurz zusammenfassen.

Substanzen, welche Milzbrandbaecillen enthalten, können in trockenem Zustande oder in Flüssigkeiten suspendirt verbreitet werden. Dass sie eingetrocknet lange Zeit wirksam sein können, war schon bekannt; doch schwanken die Angaben über die Dauer dieser Wirksamkeit. Um diese letzteren genauer zu bestimmen, wurden folgende Versuche gemacht:

Milz, Lymphdrüsen, Blut von Mäusen, Kaninchen und Meersehweinchchen wurden sofort, nachdem sie dem Thierkörper entnommen waren, an einem schattigen luftigen Ort getrocknet, und zwar in grösseren Stücken, in kleineren ungefähr erbsen- bis hiersekorn-grossen Massen und in am Deckglase eingetrockneten dünnen Schichten. Mit diesem Material wurde anfangs täglich, später von zwei zu zwei Tagen zu gleicher Zeit, nachdem eine entsprechende Menge in *Humor aqueus* aufgeweicht war, eine oder mehrere Mäuse geimpft und ein Culturversuch in einer Paraffinzelle gemacht. Die in sehr dünnen Lagen eingetrockneten Bacillenmassen verloren, je nach ihrer Dicke, nach 12—30 Stunden ihre Impffähigkeit und ebenso auch die Möglichkeit, im Brütapparat zu langen Fäden heranzuwachsen. Unmittelbar nach dem Anfeuchten hatten die Bacillen dasselbe Aussehen, wie in frischen Zustande; aber sie zerfielen sehr bald unter später genauer zu beschreibenden Veränderungen, sie waren also, nachdem

sie einen gewissen Theil ihrer Feuchtigkeit verloren hatten, abgestorben. Dickere getrocknete Stücke hielten sich zwei bis drei Wochen impf- und entwicklungsfähig. Noch grössere behielten ihre Wirksamkeit, offenbar weil sie langsamer vollkommener lufttrocken werden, gegen vier bis fünf Wochen. Aber längere Zeit hindurch frisch getrocknete bacillenhaltige Massen impffähig zu erhalten, ist mir nie gelungen, obwohl ich diese Versuche in der verschiedensten Weise modificirt und wiederholt habe, weil ich, auf Davaine's Angaben mich verlassend, anfangs bestimmt glaubte, mir auf diese Weise frisch erhaltene Milzbrandsubstanzen für spätere Versuche sichern zu können; doch wurde ich stets auf das Empfindlichste getäuscht und musste meine Arbeiten deswegen mehrfach unterbrechen, bis es mir später gelang, in anderer Weise einen stets wirksamen Impfstoff zu gewinnen und mich dadurch vom Zufall unabhängig zu machen.

Auf eine Erscheinung, welche bei dieser Versuchsreihe recht auffallend hervortrat, muss ich noch besonders aufmerksam machen, dass nämlich nur solche getrocknete Substanzen Milzbrand hervorriefen, aus welchen bei den gleichzeitig angestellten Culturversuchen sich sporenhaltige Fäden entwickelten und umgekehrt. Es würde diese Beobachtung allein schon genügen, um die directe Uebertragbarkeit des Milzbrandes als von dem Vorhandensein lebensfähiger Bacillen abhängig zu beweisen.

Ehe ich zu den Versuchen über Milzbrandflüssigkeiten übergehe, muss ich eine Reihe von Culturversuchen bei verschiedenen Temperaturen erwähnen. Es war mir hauptsächlich darum zu thun, die unterste Temperaturgrenze zu finden, bei welchen der *Bacillus Anthracis* noch keimfähige Sporen zu entwickeln vermag. Es wurden also eine Anzahl Paraffinzellen in der früher beschriebenen Weise mit Nährflüssigkeit und frischen lebenskräftigen Bacillen besetzt und bei verschiedenen Temperaturen aufbewahrt. Da dieses Experiment während des Winters angestellt wurde, so war es mir leicht, einzelne Präparate in einem bis auf 5° abgekühlten Raum zu halten. Die höheren Temperaturen (über 40°) wurden vermittelt des heizbaren Objecttisches erhalten. Hierbei stellte sich heraus, dass die Fäden am schnellsten bei 35° wachsen; schon nach 20 Stunden können sie bei dieser Temperatur mit den schönsten Sporen versehen sein. Bei 30° zeigen sich die Sporen etwas später, nämlich nach ungefähr 30 Stunden. Bei noch niedrigerer Temperatur wird auch die Entwicklung der Bacillen entsprechend langsamer. Bei 18—20°

(Cels.), also gewöhnlicher Zimmertemperatur, brauchen sie ungefähr zwei und einen halben bis drei Tage zur Sporentwicklung. Unter 18° kommt es nur noch ausnahmsweise zur Sporenbildung und unter 12° habe ich überhaupt kein Wachsthum der Fäden mehr beobachtet. Ueber 40° wird die Entwicklung der Bacillen kümmerlich und schien mir bei 45° aufzuhören; doch habe ich die Versuche über die oberen Temperaturgrenzen für das Wachsthum der Bacillen nicht oft genug wiederholt (da der heizbare Objecttisch immer nur die Beobachtung eines einzelnen Präparates zulässt), um dieselbe ganz genau angeben zu können.

Ich komme nun auf das für die Aetiologie des Milzbrandes so äusserst wichtige Verhalten der Bacillen in verschiedenen Flüssigkeiten und unter möglichst natürlichen Bedingungen. Da von dem mir zu Gebot stehenden Versuchsthier, der Maus, nur ein sehr geringes Quantum Blut zu erhalten war und dieses Blut ausserdem noch sehr wenige Bacillen enthält, so nahm ich frisches Rinderblut oder den von mir mit Vorliebe gebrauchten *Humor aqueus*, einigemal auch Glaskörper von Rinderaugen und zerrieb in diesen Flüssigkeiten frische bacillenhaltige Mäusemilz, so dass das Gemenge in der Zusammensetzung ungefähr dem Blute, serösen und schleimigen Flüssigkeiten von an Milzbrand gefallenen Thieren glich.

Derartige Flüssigkeiten in ein gut verkorktes Glas gefüllt, nehmen im Brütapparat sehr schnell einen höchst penetranten Fäulnissgeruch an. Die Bacillen sind schon nach 24 Stunden verschwunden, ohne dass sie zu Fäden ausgewachsen wären und es gelingt dann nicht mehr, damit Milzbrand zu erzeugen. Davon dass das Absterben der Bacillen in diesem Falle weniger von dem Einfluss der sich entwickelnden Fäulnissgase, welche nicht entweichen können, sondern von dem Mangel an Sauerstoff abhängt, kann man sich leicht durch folgendes Experiment überzeugen. Ein zwischen einem gewöhnlichen Objectträger und Deckglas ohne Luftblasen befindlicher bacillenhaltiger Blutstropfen wird durch eine auf den Rand gepinselte Oel-schicht luftdicht eingeschlossen und auf dem heizbaren Objecttisch erwärmt. Das Blut zeigt mit dem Mikrospektroskop untersucht anfangs die beiden Streifen des Oxyhämoglobin; dabei fangen die Bacillen ganz wie in den Zellenpräparaten, an sich zu verlängern und erreichen nach ungefähr drei Stunden die 4–5fache Länge. Dann ist der Sauerstoff verbraucht, es verschwinden die beiden Streifen und es erscheint dafür der zwischen beiden liegende Streifen des reducirten Hämoglobin. Von diesem Zeitpunkte an hört auch das weitere Wachsthum der Bacillen vollständig auf, obwohl noch

keine Fäulnisbakterien bemerkt werden und die eigentliche Fäulnis noch nicht eingetreten ist¹⁾). An einem solchen Präparate kann man, wenn es bei niedriger Temperatur gehalten wird, in vorzüglicher Weise die Veränderungen der Bacillen beim Absterben studiren. Dieser Vorgang gestaltet sich folgendermassen. Während frische Bacillen und im kräftigen Wachstum befindliche (mit Ausnahme des Zeitpunktes dicht vor der Sporenbildung) immer einen homogenen glashellen Inhalt haben und nur ganz vereinzelt eine sonst nur durch winklige Knickungen angedeutete Gliederung zeigen, erkennt man in den absterbenden Bacillen als erstes Symptom eine Trübung des Inhalts und eine Sonderung desselben in kürzere Abtheilungen. Die Bacillen erscheinen dann mehr oder weniger deutlich gegliedert, namentlich so lange noch die äusserst feine Zellmembran diese Theile scheidenartig umhüllt und zusammenhält. Aber sehr bald verlieren die Bacillen ihre scharfen Contouren, sie scheinen aus kurzen, rundlichen, lose zusammenhängenden Stückchen zu bestehen und zerfallen schliesslich vollständig. Die mir vorliegende Abbildung Bollinger's (l. c. p. 465) ist eine ziemlich getreue Darstellung solcher abgestorbener Bacillen. Ich habe einzelne in dieser Weise zerfallende Bacillen in den verschiedensten Präparaten oft tagelang von Zeit zu Zeit beobachtet, habe aber niemals einen Uebergang derselben in Micrococcen oder dergleichen gesehen.

Ganz andere Bilder gewähren dagegen bei öfters wiederholter Untersuchung die genannten bacillenhaltigen Flüssigkeiten, wenn der Zutritt von Sauerstoff, und sei es auch nur in sehr geringer Menge, gestattet wird und ihre Temperatur nicht dauernd unter 18° herabsinkt. Sehr gut lassen sich die hierbei eintretenden Veränderungen verfolgen, wenn ungefähr 10--20 Gramm der Flüssigkeit in einem Uhrglase, auf welches eine nicht festschliessende Glasplatte aufgelegt wird, mehrere Tage bei Zimmertemperatur bleiben. Die Flüssigkeit nimmt schon nach 24 Stunden Fäulnisgeruch an, der nach weiteren 24 Stunden gewöhnlich sehr penetrant ist. Dem entsprechend finden sich auch sehr bald Micrococcen und Bacterien in grosser Menge. Daneben aber gedeiht der *Bacillus Anthracis* so gut, als ob er der alleinige Bewohner der Nährflüssigkeit wäre. Seine Fäden erreichen schon nach 24 Stunden eine beträchtliche

¹⁾ Im nicht geöffneten Körper eines an Milzbrand gestorbenen Thieres verlängern sich die Bacillen, auch wenn der Cadaver längere Zeit bei einer Temperatur von 18--20° gelassen wird, nur sehr wenig oder gar nicht; offenbar weil der Sauerstoff des Blutes nach dem Tode schnell durch Oxydationsprocesse verbraucht und nicht wieder ersetzt wird.

Länge und haben öfters schon nach 48 Stunden und selbst noch zeitiger Sporen in grosser Menge angesetzt¹⁾. Nach der Sporenentwicklung zerfallen die Fäden und die Sporen sinken zu Boden. Die Vegetation der übrigen Schizophyten, welche zufällig in die Flüssigkeit eindringen und sich darin vermehren, geht noch Tage lang in üppigster Weise weiter. Allmählich aber verschwinden auch diese, der charakteristische Fäulnissgeruch nimmt ab, schliesslich bildet sich ein schlammiger Bodensatz und die darüber stehende Flüssigkeit wird arm an geformten Bestandtheilen und fast klar. Sie hat zuletzt einen schwachen Geruch nach Leim oder Käse, verändert sich, wenn sie bisweilen durch den Zusatz von destillirtem Wasser vor dem Austrocknen geschützt wird, nicht mehr und ist vollständig ausgefault.

Wurden bacillenhaltige Substanzen mit destillirtem oder Brunnenwasser mässig verdünnt, dann verhindert das die Sporenbildung nicht; aber bei stärkerer Verdünnung entwickeln sich die Bacillen nicht mehr²⁾, sie sterben bald ab und erzeugen ungefähr nach 30 Stunden eingimpft keinen Milzbrand mehr. Die Nährflüssigkeit muss also eine gewisse noch näher zu bestimmende Menge an Salzen und Eiweiss enthalten, damit die Bacillen bis zur Sporenbildung kommen können.

Es unterliegt wohl keinem Zweifel, dass die meisten Cadaver der an Milzbrand gefallenen Thiere, welche im Sommer mässig tief eingescharrt werden, oder längere Zeit auf dem Felde, im Stalle, in Abdeckereien liegen, ebenso die blut- und bacillenhaltigen Abgänge der kranken Thiere im feuchten Boden oder im Stalldünger mindestens ebenso günstige Bedingungen für die Sporenbildung des *Bacillus Anthracis* bieten, als es in den vorher geschilderten Versuchsreihen der Fall ist. Durch diese Experimente würde also der Beweis geliefert sein, dass nicht blos durch künstliche Züchtung im Ausnahmefalle die Sporen des *Bacillus Anthracis* entstehen, sondern dass dieser Parasit in jedem Sommer im Boden, dessen Feuchtigkeit das Austrocknen der den Höhlungen des noch lebenden oder schon abgestorbenen milzbrandigen Thieres entströmenden Nährflüssigkeit verhindert, seine Keime in unzählbarer Menge ablagert.

Dass sich diese Keime im Wasser nicht verändern, aber in

1) In Paraffinzellen zu gleicher Zeit und unter denselben Verhältnissen gezüchtete Bacillen wuchsen langsamer und kümmerlicher. Vielleicht wegen des erheblich geringeren Sauerstoffvorraths.

2) z. B. Bacillen in Mausmilz mit dem zwanzigfachen Quantum destillirten Wassers verdünnt, wuchsen nicht.

Humor aqueus und Blutserum wieder zu Bacillen heranwachsen, haben wir früher gesehen. Da liesse sich wohl schon von vornherein annehmen, dass, wenn von diesen Sporen auf irgend einem Wege eine oder auch mehrere in den Blutstrom eines für Milzbrand empfänglichen Thieres gelangt, hier eine neue Generation von Bacillen erzeugt wird. Um diese Annahme auch experimentell zu prüfen, wurden noch folgende Versuche angestellt.

Von zwei mit bacillenhaltigem Blutserum gefüllten, verdeckten Uhrgläsern blieb das eine im Zimmer, das andere wurde in einem kalten Raume (8°) aufbewahrt und von beiden täglich zwei Thiere geimpft. Im Blutserum, welches kalt stand, fingen die Bacillen am dritten Tage an körnig und gegliedert zu werden, bis dahin war es wirksam; die später damit geimpften Thiere blieben gesund. Die Impfungen mit dem warmstehenden Blutserum waren vor und nach der Sporenbildung in den Fäden des *Bacillus Anthracis* wirksam; selbst nach 14 Tagen liess sich mit solchem gefaulten Blute, welches Bacillen-Sporen enthält, noch mit derselben Sicherheit Milzbrand erzeugen, wie mit frischer stäbchenhaltiger Milz. Die Sporen scheinen sich sehr lange Zeit in faulenden Flüssigkeiten ebenso gut, wie in nicht faulenden, keimfähig zu erhalten. Denn mit Glaskörper von Rinderaugen, in welchem ich bei ungefähr 20° Bacillen aus einer Mausemilz zur Sporenbildung kommen liess und welcher nach drei Wochen vollständig ausgefault war, konnte noch nach eilf Wochen mit absoluter Sicherheit durch Impfung Milzbrand hervorgerufen werden. Der Bodensatz dieser ausgefaulten Flüssigkeit enthielt sehr viele von kleinen Schleimflocken zusammengehaltene Bacillen-Sporen, während man in der fast klaren Flüssigkeit bei mikroskopischer Untersuchung oft mehrere Gesichtsfelder durchsuchen musste, ehe man einige vereinzelte Sporen fand. Von Fäden war natürlich nicht das Geringste mehr vorhanden. Bei den Impfungen mit dem sporenen Bodensatz und mit der sporenen Flüssigkeit stellte sich die interessante Thatsache heraus, dass mit ersterem also mit vielen Sporen geimpfte Mäuse nach 24 Stunden, mit letzterer also mit weniger Sporen geimpfte Mäuse nach drei bis vier Tagen an Milzbrand starben. Ich bemerke noch besonders, dass ich diesen Versuch mehrere Male und immer mit demselben Erfolg wiederholt habe.

Sporenhaltige Flocken derselben Flüssigkeit wurden drei Wochen in einem mit Brunnenwasser gefüllten offenen Reagensglase aufbewahrt; trotzdem blieben dieselben wirksam bei der damit vorgenommenen Impfung.

Ebensolche sporenhaltige Substanzen wurden getrocknet, nach einiger Zeit mit Wasser wieder aufgeweicht und dieser Procedur wiederholt unterworfen; aber sie verloren ihre Fähigkeit Milzbrand zu erzeugen, dadurch nicht.

Hiernach wird es nun auch leicht erklärlich, warum die Meinungen der Experimentatoren über die Wirksamkeit des getrockneten Milzbrandblutes so weit auseinandergelien; da der Eine frisches, schnell getrocknetes Blut benutzte, welches keine Sporen enthielt und, wie ich früher gezeigt habe, sich höchstens fünf Wochen wirksam erhält; von Anderen dagegen wurde mit Blut geimpft, das langsam bei Zimmer- oder Sommer-Temperatur eingetrocknet war und in welchem sich Sporen gebildet hatten. Ich besitze eine kleine Sammlung von Milzbrandsubstanzen, welche unter den verschiedensten Umständen und zu verschiedenen Zeiten getrocknet und in unverstöpselten, enghalsigen Gläsern aufbewahrt sind. Als ich auf die Bedeutung der Sporen in getrockneten Milzbrandmassen aufmerksam wurde, untersuchte ich diese getrockneten Blut-, Milz- und Drüsenstücke nochmals genau auf ihre Fähigkeit, mit *Humor aqueus* aufgeweicht in Glaszellen die charakteristischen sporenhaltigen Fäden des *Bacillus Anthracis* und bei der Impfung Milzbrand entstehen zu lassen. Hierbei stellte sich heraus, dass die in kleinen Stücken schnell getrockneten Theile keine Sporen enthielten und weder Fäden noch Milzbrand hervorzubringen vermochten. Schafmilz dagegen, welche in grösseren Stücken im Zimmer langsam getrocknet war, und einige Blutproben, welche in grösseren Quantitäten aufgestellt gewesen waren und mehrere Tage zum vollständigen Eintrocknen gebraucht hatten, enthielten zahlreiche mehr oder weniger freie Sporen und Bruchstücke von sporenhaltigen Fäden. Alle diese sporenhaltigen Substanzen riefen nach der Einimpfung Milzbrand hervor und entwickelten in Nährflüssigkeiten oft die schönsten sporenhaltigen Fäden von *Bacillus Anthracis*. Wie lange sich die getrockneten Sporen keimfähig halten, lässt sich zur Zeit nicht mit Bestimmtheit angeben; wahrscheinlich wird dieser Zeitraum eine längere Reihe von Jahren umfassen; wenigstens habe ich mit Schafblut, welches vor fast vier Jahren getrocknet ist, noch in letzter Zeit vielfach Impfungen ausgeführt, welche ausnahmslos tödtlichen Milzbrand bewirkten ¹⁾.

Mehrfach ist die Identität der durch Impfungen mit Milzbrandblut hervorgerufenen Krankheit mit Septicämie und ebenso das um-

¹⁾ Die beim Bearbeiten von Häuten, Haaren und dergl. entstandenen Milzbranderkrankungen bei Menschen, können, wenn diese Gegenstände schon vor Jahren getrocknet sind, nur durch sporenhaltige Staubtheile veranlasst sein.

gekehrte Verhältniss behauptet worden. Um diesen Einwand, der möglicherweise auch meinen mit faulenden Milzbrandsubstanzen angestellten Impfversuchen gemacht werden könnte, zu begegnen, habe ich mit faulendem Blute von gesunden Thieren mit bacillenfreiem faulenden *Humor aqueus* und Glaskörper Mäuse mehrfach geimpft. Dieselben blieben fast immer gesund, nur zwei Mäuse starben von zwölf geimpften, und zwar einige Tage nach der Impfung; sie hatten vergrösserte Milz, aber diese sowohl wie das Blut waren vollständig frei von Bacillen. Ferner wurden Thiere mit faulendem Glaskörper geimpft, in welchem sich eine dem *Bacillus Anthracis* sehr ähnliche Bacillusart spontan entwickelt hatte. Die Sporen der beiden Bacillusarten waren weder in Grösse noch sonstigem Aussehen von einander zu unterscheiden; nur die Fäden des Glaskörper-Bacillus waren kürzer und deutlich gegliedert. Alle Impfungen mit diesen mehrmals von mir auf Glaskörper gefundenen Bacillen und mit ihren Sporen vermochten keinen Milzbrand zu erzeugen. Auch solche Thiere, welche mit Sporen der im Heu-Infus von Prof. F. Cohn gezüchteten Bacillen geimpft wurden, blieben gesund. Dagegen habe ich mehrfach mit Sporenmassen, welche in Glaszellen gezüchtet waren und wie ich mich vorher durch mikroskopische Untersuchungen versicherte, aus ganz reinen Culturen von *Bacillus Anthracis* stammten, geimpft und jedesmal starben die geimpften Thiere an Milzbrand. Es folgt hieraus, dass nur eine Bacillusart im Stande ist, diesen specifischen Krankheitsprocess zu veranlassen, während andere Schizophyten durch Impfung gar nicht oder in anderer Weise krankheitserregend wirken. Es könnte auffallend erscheinen, dass von meinen mit faulendem Blute geimpften Versuchsthieren nur ausnahmsweise eins an Septicämie zu Grunde ging; dem gegenüber bemerke ich, dass ich nicht, wie es gewöhnlich üblich ist, das faulende Blut nach Cubikcentimetern einspritzte, sondern nur eine verschwindend kleine Menge desselben dem Körper des Thieres einimpfte und damit natürlich die Wahrscheinlichkeit, die im Blute vielleicht sparsam vorhandenen septisch wirkenden Formelemente in den Blutstrom zu bringen, sehr verringert wird.

Dass die Sporen des *Bacillus Anthracis* Milzbrand hervorrufen, wenn sie direkt in den Säftestrom des Thierkörpers gebracht werden, ist durch die zuletzt besprochenen Versuche wohl hinreichend bewiesen. Die Sporen müssen also wirksam werden, sobald sie in getrocknetem Zustande als Staubpartikelchen oder in Flüssigkeiten suspendirt auf Wunden, wenn diese auch noch so klein sind, gelangen. Man dürfte wohl kaum eines unsrer Hausthiere finden, dessen Haut

nicht mit einigen Kratzwunden oder kleinen durch Scheuern, Reiben und dergl. entstandenen Hautabschürfungen versehen ist und damit dem gefährlichen Schmarotzer einen bequemen Eingang darbietet. Trotzdem ist damit noch nicht gesagt, dass die Milzbrandsporen nur auf diesem Wege einzuwandern vermögen. Es müssen, um die Milzbrandätiologie vollständig zu haben, auch die Verdauungswege und die Respirationsorgane auf ihre Resorptionsfähigkeit für Milzbrandbacillen und deren Sporen untersucht werden.

Um zu sehen, ob das Milzbrandcontagium vom Verdauungskanal aus in den Körper eindringen kann, habe ich zuert Mäuse mehrere Tage lang mit frischer Milz von Kaninchen und vom Schaf, welche an Milzbrand gestorben waren, gefüttert. Mäuse sind ausserordentlich gefrässig und nehmen in kurzer Zeit mehr als ihr Körpergewicht beträgt, an milzbrandigen Massen auf, so dass also ganz erhebliche Mengen von Bacillen den Magen und Darm der Versuchsthiere passirten. Aber es gelang mir nicht, dieselben auf diese Weise zu inficiren. Dann mengte ich den Thieren sporenhaltige Flüssigkeit unter das Futter; auch das frassen sie ohne jeden Nachtheil; auch durch Fütterung grösserer Mengen von sporenhaltigem, kurz vorher oder schon vor Jahren getrocknetem Blute konnte kein Milzbrand bei ihnen erzeugt werden. Kaninchen, welche zu verschiedenen Zeiten mit sporenhaltigen Massen gefüttert wurden, blieben ebenfalls gesund. Für diese beiden Thierspecies scheint demnach eine Infection vom Darmkanal aus nicht möglich zu sein.

Ueber das Verhalten der mit Staub in die Athmungsorgane gelangten Sporen vermag ich bis jetzt nichts anzugeben, da es mir noch nicht möglich war, darauf bezügliche Versuche anzustellen.

Ich schliesse hier noch einige Versuchsreihen und Beobachtungen an, welche nicht direct mit der Aetiologie des Milzbrandes in Verbindung stehen, aber doch Interesse genug bieten, um mitgetheilt zu werden.

Den schon von Brauell gemachten Versuch, sowohl mit dem bacillenhaltigen Blute trächtiger Thiere, als mit dem bacillenfren Blute des Fötus derselben zu impfen, habe ich mit einem trächtigen Meerschweinchen und zwei trächtigen Mäusen wiederholt. Das Resultat war das nämliche, wie bei dem Experiment von Brauell; die mit dem mütterlichen Blute geimpften Thiere starben an Milzbrand, die mit dem fötalen Blute geimpften blieben gesund. Um zu sehen, wie bald nach der Impfung die ersten Bacillen im Blute oder in der Milz der geimpften Thiere sich einfinden, wurden neun Mäuse zu gleicher Zeit geimpft. Nach zwei, vier, sechs, acht, zehn, zwölf,

vierzehn und sechszehn Stunden wurde jedesmal eine dieser Mäuse durch Chloroform getödtet und Blut sowohl als Milz sofort untersucht. In den sechs ersten Thieren wurden keine Bacillen gefunden. Erst in der Milz der vierzehn Stunden nach der Impfung getödteten Maus zeigten sich vereinzelt Bacillen. Bei der Maus, welche sechszehn Stunden gelebt hatte, fanden sich schon mehr Bacillen und die Milz war vergrössert. Die letzte starb nach siebzehn Stunden unter den gewöhnlichen charakteristischen Symptomen; ihre Milz war erheblich vergrössert und vollgestopft mit dichten Bacillenmassen. Das Eindringen der Bacillen in den Blutstrom scheint also langsam vor sich zu gehen, aber wenn sie erst einmal hineingelangt sind und hier in ihrer eigentlichen Heimath festen Fuss gefasst haben, vermehren sie sich in der üppigsten Weise.

Ausser an Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen habe ich Impfversuche an zwei Hunden, einem Rebhuhn und einem Sperling gemacht. Obwohl ich diese Thiere wiederholt mit ganz frischem Material impfte, so ist es mir doch nicht gelungen, sie mit Milzbrand zu inficiren.

Auch Frösche sind ganz unempfänglich für Impfungen mit *Bacillus Anthracis* oder dessen Sporen. Als ich einigen Fröschen grössere Stücke Milz von an Milzbrand gestorbenen Mäusen unter die Rückenhaut brachte, die Thiere nach 48 Stunden tödtete und untersuchte, stellte sich folgender bemerkenswerthe Befund heraus. Das Blut der Frösche war vollkommen frei von Bacillen. Die Mausemilz war mit ihrer Umgebung leicht verklebt und hatte statt ihrer dunkelbraunrothen Farbe eine mehr hellgraurothe angenommen. Bei der mikroskopischen Untersuchung derselben finden sich in der Mitte noch unveränderte Bacillen in grosser Menge, aber in den äusseren Schichten trifft man auf viele Bacillen, welche dicker geworden sind und sich verlängert haben, und zwischen diesen sieht man eigenthümliche Gebilde in grosser Zahl; nämlich mehr oder weniger regelmässig spiralförmig gewundene Bacillen, welche theils frei sind, theils aber auch von einer sehr dünnwandigen Kapsel eingeschlossen werden. Die Erklärung für diese ungewöhnliche Gestaltung der Bacillen ist leicht zu finden, wenn man die fast gallertartige, anscheinend von der Froshaut ausgeschiedene äusserste Umhüllungsschicht der Milz untersucht (Fig. 7). Diese Schicht besteht aus grossen, in eine strukturlose zähflüssige Grundsubstanz eingebetteten Zellen, welche fast die Grösse der Froshblutkörperchen erreichen (Fig. 7a). Dieselben sind trotz ihrer Grösse sehr blass und zart, haben einen sehr deutlichen Kern mit Kernkörperchen und enthalten viele sehr kleine,

in lebhaftester Molekularbewegung befindliche Körnchen. In den meisten von diesen Zellen nun befinden sich einzelne oder mehrere kurze gerade Bacillen, in anderen etwas gekrümmte, geknickte, zu Haufen und Bündeln vereinigte und vorzugsweise spiralförmig gedrehte Bacillen (Fig. 7 b). Sobald die Zellen mehrere Bacillen beherbergen, erscheinen die Molekularkörnchen in ihnen vergrössert, nimmt aber die Bacillenwucherung in ihnen überhand, dann verschwinden diese Körnchen und zuletzt auch der noch am längsten zu erkennende Kern. Dass die als kurze Stäbchen von den Zellen aufgenommenen Bacillen in diesen wachsen und, nachdem sie das Innere derselben unter Bildung von verschiedenen Knickungen und Krümmungen ausgefüllt haben, schliesslich sprengen, geht daraus hervor, dass man neben den freigewordenen Bacillen-Spiralen (Fig. 7 g) und -Bündeln zusammengefallene und leere Zellmembranen als letzten Rest der zerstörten Zellen findet (Fig. 7 e)¹.

Ganz besonders schön sind diese bacillenhaltigen Zellen zu sehen, wenn dem Präparat etwas destillirtes Wasser zugesetzt wird. Die Zellen quellen dadurch etwas auf, ihr Inhalt wird deutlicher und wenn sie durch die Flüssigkeitsströmungen fortgerissen in eine rollende Bewegung versetzt werden, kann man sich leicht die Ueberzeugung verschaffen, dass auch einzelne Bacillen wirklich im Innern der Zelle und zwar gewöhnlich dicht neben dem Kern liegen und nicht etwa nur in die weiche Zellen-Oberfläche eingedrückt sind. Man hat schon vielfach die Vermuthung ausgesprochen, dass die amöboiden Zellen des Thierkörpers, also vor Allem die weissen Blutkörperchen in derselben Weise, wie sie den leicht nachweisbaren künstlich ins Blut eingeführten Farbekörnchen den Eingang in ihr Protoplasma gestatten, so auch die in die Blutbahn eingedrungenen Micrococcen aufzunehmen vermögen. So viel ich weiss, ist es jedoch bis jetzt nicht gelungen, die weder durch ihre Form noch durch ihre Reactionen von den Molekularkörnchen dieser Zellen scharf unterschiedenen Micrococcen als solche mit Bestimmtheit nachzuweisen. Auch scheint bis jetzt überhaupt kein vollkommen sicheres Beispiel für das Vorkommen von schizophytenhaltigen lebenden thierischen Zellen bekannt zu sein, und ich habe deswegen von den vorhin beschriebenen Zellen in

¹) Zu mehr als mittlerer Länge wachsen die Fäden unter der Frosehaut nicht aus, ich habe auch niemals Sporentwicklung in denselben gesehen. Nach mehreren Tagen wird ihre Zahl geringer, sie scheinen allmählich zu zerfallen, doch habe ich bei einem Frosehe zehn Tage nach Transplantation der Mausemiltz noch lange Fäden und bacillenhaltige Zellen gefunden.

Fig. 7 eine Abbildung gegeben. Diese Beobachtung steht in sofern nicht vereinzelt, als ich bei andern Fröschen, nachdem faules getrocknetes Blut unter die Rückenhaut gebracht war, dieselben Zellen gefunden habe; aber in diesem Falle enthielten sie ganz andere kurzgliederige Bacillen, welche meistens mit einer Dauerspore versehen waren (Billroth's Helobacterien). Auch in der frisch untersuchten Milz eines an Milzbrand gefallenen Pferdes (die einzige, welche ich zu untersuchen Gelegenheit hatte) waren neben sehr zahlreichen freien Stäbchen grosse blasse Zellen, meistens mit mehreren Kernen vorhanden, von denen viele eine, bis zehn und mehr Bacillen enthielten.

IV. Aetiologie des Milzbrandes. Werfen wir nun einen Blick zurück auf die bis jetzt gewonnenen Thatsachen und versuchen wir mit ihrer Hülfe die Aetiologie des Milzbrandes festzustellen, so dürfen wir uns nicht verhehlen, dass zur Construction einer lückenlosen Aetiologie noch Manches fehlt. Vor Allem ist nicht zu vergessen, dass sämmtliche Thierexperimente an kleinen Nagethieren angestellt sind. Es ist allerdings unwahrscheinlich, dass die Wiederkäuer, die eigentlichen Wohnthiere des uns beschäftigenden Parasiten, sich diesem gegenüber sehr verschieden von Nagethieren verhalten sollten. Aber schon bei den Impfversuchen besteht in sofern ein Unterschied, dass kleine Thiere nach 24—30 Stunden, grosse erst nach mehreren Tagen sterben. Könnten nicht vielleicht während dieser längeren Zeit die Bacillen an irgend einer Stelle des thierischen Körpers zur Sporenbildung kommen? Oder gelangen sie überhaupt niemals im lebenden Körper zur Ansetzung von Sporen? Ferner sind die Fütterungsversuche mit Bacillen und Sporen bei Nagethieren mit ihrem negativen Resultat durchaus nicht massgebend für Wiederkäuer, deren ganzer Verdauungsprozess doch wesentlich anders ist. Einathmungsversuche mit sporenhaltigen Massen fehlen noch ganz. Auch sind Versuche über das Verhalten grösserer Milzbrandeadaver bei verschiedenen Temperaturen, in verschiedenen Bodentiefen und Bodenarten (Thon-, Kalk-, Sandboden, trockener Boden, feuchter Boden, Einfluss des Grundwassers) in Bezug auf die Sporenbildung der Bacillen noch nicht gemacht und es würde doch von höchstem praktischem Werth sein, gerade hierüber sichere Kenntniss zu erlangen. Noch eine Menge Einzelheiten über das Verhalten der Bacillen und ihrer Sporen gegen zerstörende oder ihre Entwicklung hindernde Stoffe, über den Vorgang ihrer Einwanderung in die Blut- und Lymphgefässe müssten erforscht werden. Wenn aber auch noch manche Frage über diesen bisher so räthselhaften Parasiten zu lösen

ist, so liegt sein Lebensweg jetzt doch so weit vor uns offen, dass wir die Aetiologie der von ihm veranlassten Krankheit wenigstens in den Grundzügen mit voller Sicherheit feststellen können.

Vor der Thatsache, dass Milzbrandsubstanzen, gleichviel ob sie verhältnissmässig frisch oder ausgefault oder getrocknet und Jahre alt sind, nur dann Milzbrand zu erzeugen vermögen, wenn sie entwicklungsfähige Bacillen oder Sporen des *Bacillus Anthracis* enthalten, vor dieser Thatsache müssen alle Zweifel ob der *Bacillus Anthracis* wirklich die eigentliche Ursache und das Contagium des Milzbrandes bildet, verstummen. Die Uebertragung der Krankheit durch feuchte Bacillen im ganz frischen Blut kommt in der Natur wohl nur selten vor, am leichtesten noch bei Menschen, denen beim Schlachten, Zerlegen, Abhäuten von milzbrandigen Thieren Blut oder Gewebssaft in Wunden gelangt. Häufiger wird wahrscheinlich die Krankheit durch getrocknete Bacillen veranlasst, welche, wie nachgewiesen wurde, ihre Wirksamkeit einige Tage, im günstigsten Falle gegen fünf Wochen erhalten können. Durch Insekten, an Wolle und dergleichen haftend, namentlich mit dem Staub, können sie auf Wunden gelangen und dann die Krankheit hervorrufen. Bacillenhaltige Massen, welche in Wasser gelangen und dort stark verdünnt werden, verlieren sehr bald ihre Wirksamkeit und tragen zur Verbreitung des Milzbrandes wahrscheinlich nur ausnahmsweise bei.

Die eigentliche Masse der Erkrankungen aber, welche fast immer unter solchen Verhältnissen eintritt, dass die eben genannten Uebertragungsweisen ausgeschlossen werden müssen, kann nur durch die Einwanderung von Sporen des *Bacillus Anthracis* in den Thierkörper verursacht werden. Denn die Bacillen selbst können sich in dauernd trockenem Zustande nur kurze Zeit lebensfähig erhalten und vermögen deswegen sich weder im feuchten Boden zu halten, noch den wechselnden Witterungsverhältnissen (Niederschlägen, Thau) Widerstand zu leisten, während die Sporen dagegen in kaum glaublicher Art und Weise ausdauern. Weder jahrelange Trockenheit, noch monatelanger Aufenthalt in faulender Flüssigkeit, noch wiederholtes Eintrocknen und Anfeuchten vermag ihre Keimfähigkeit zu stören. Wenn sich diese Sporen erst einmal gebildet haben, dann ist hinreichend dafür gesorgt, dass der Milzbrand auf lange Zeit in einer Gegend nicht erlischt. Dass aber die Möglichkeit zu ihrem Entstehen oft genug gegeben ist, wurde früher schon hervorgehoben. Ein einziger Cadaver, welcher unzweckmässig behandelt wird, kann fast unzählige Sporen liefern und wenn auch Millionen von diesen Sporen schliesslich zu Grunde gehen ohne zur Keimung im Blute

eines Thieres zu gelangen, so ist bei ihrer grossen Zahl doch die Wahrscheinlichkeit nicht gering, dass einige vielleicht nach langer Lagerung im Boden oder im Grundwasser, oder an Haaren, Hörnern, Lumpen und dergleichen angetrocknet als Staub, oder auch mit Wasser auf die Haut der Thiere gelangen und hier direct durch eine Wunde in die Blutbahn eintreten, oder auch später durch Reiben, Scheuern und Kratzen des Thieres in kleine Hautabschilferungen eingerieben werden. Möglicherweise dringen sie auch von den Luftwegen oder vom Verdauungskanal aus in die Blut- oder Lympfgefässe ein.

Wenn es nun gelungen ist, die Art und Weise der Verbreitung des Milzbrandes und die Bedingungen aufzufinden, unter denen das Contagium sich immer wieder von Neuem erzeugt, sollte es da nicht möglich sein, unter Berücksichtigung jener Bedingungen das Contagium, also den *Bacillus Anthracis*, in seiner Entwicklung zu hindern und so die Krankheit auf ein möglichst geringes Mass zu reduciren, vielleicht sogar gänzlich auszurotten? Dass diese Frage ein nicht geringes Interesse beansprucht, mag daraus hervorgehen, dass nach Spinola¹⁾ ein einziger preussischer Kreis (Mannsfelder Seekreis) jährlich für 180,000 Mk. Schafe durch Milzbrand verliert, dass allein im Gouvernement Nowgorod in den Jahren 1867—1870 über 56,000 Pferde, Kühe und Schafe und ausserdem 528 Menschen an Milzbrand zu Grunde gingen²⁾.

Die jetzt bestehenden Massregeln gegen den Milzbrand beschränken sich auf Anzeigepflicht, Vergraben der Cadaver in mässig tiefen Gruben, Desinfection und Absperrung des von der Seuche befallenen Ortes. Ganz abgesehen davon, dass erfahrungsgemäss wegen der höchst lästigen Sperrmassregeln die wenigsten Milzbrandfälle angezeigt werden und dass der gerade unter den Schafen am meisten verbreitete Milzbrand fast ganz unbeachtet bleibt und vernachlässigt wird, so muss offenbar das Eingraben der Cadaver in den feuchten Erdboden die Bildung von Sporen und damit die Fortpflanzung des Contagiums eher fördern als dieselbe verhindern. Bis jetzt ist es anscheinend auch noch nirgends wo gelungen, auf diese Weise den Milzbrand dauernd zu beseitigen. Im Gegentheil hat Oemler³⁾ seinen Schafverlust an Milzbrand von 21 % pro anno auf 2 % herabgebracht, nachdem er das

1) Pappenheim, Sanitätspolizei Band II. p. 276.

2) Grimm (Virchow's Archiv B. 54 p. 262) citirt nach Bollinger l. c. p. 469.

3) Bollinger l. c. p. 453.

Verscharren aller Cadaver ohne Ausnahme auf Feldern und Weiden auf das Strengste untersagt hatte.

Wir müssen uns also nach anderen Mitteln umsehen, um die Heerden von diesem Würgeengel zu befreien und tausende von Menschen vor einem qualvollen Tode zu schützen.

Das sicherste Mittel wäre, alle Substanzen, welche *Bacillus Anthracis* enthalten, zu vernichten. Da es aber nicht ausführbar ist, diese Menge von Cadavern, wie sie der Milzbrand liefert, durch Chemikalien oder Siedehitze unschädlich zu machen, oder gar durch Verbrennen aus dem Wege zu schaffen, so müssen wir auf dieses Radicalmittel verzichten. Wenn es aber auch nur gelänge, die Entwicklung der Bacillen zu Sporen zu verhindern oder wenigstens auf ein Minimum zu reduciren, dann müssten schon die Milzbrand-Erkrankungen immer mehr und mehr abnehmen und schliesslich verschwinden.

Da die Bacillen, wie wir gesehen haben, zur Sporenbildung Luftzufuhr, Feuchtigkeit und eine höhere Temperatur als ungefähr 15° nöthig haben, so muss es genügen, ihnen eine dieser Bedingungen zu nehmen, um sie an der Weiterentwicklung zu hindern. Die schnelle Austrocknung grosser Cadaver würde besondere Apparate erfordern und selbst grössere Schwierigkeiten machen, als das Verbrennen. Dagegen könnte man ohne erhebliche Mühe und Kosten die Milzbrand-Cadaver längere Zeit, auch selbst im Sommer, unter 15° abkühlen, ihnen gleichzeitig den Sauerstoffzutritt beschränken und auf diese Weise die Bacillen zum Absterben bringen. Wenn man nämlich bedenkt, dass im mittleren Europa, also namentlich in Deutschland in einer Boden-Tiefe von 8—10 Metern eine fast constante Temperatur herrscht, welche dem Jahresmittel sehr nahe kommt, also auf jeden Fall unter 15° C. bleibt, so brauchte man nur geräumige Brunnen oder Gruben von dieser Tiefe anzulegen und die Milzbrandcadaver darin zu versenken, um die Bacillen zu vernichten und die Cadaver dadurch unschädlich zu machen. Je nach der Durchschnitts-Zahl der Milzbrandfälle müssten derartige Gruben in geringer oder grosser Zahl für bestimmte Bezirke gemacht werden. Dieselben würden sich in mässiger Entfernung von den Wirthschaftsgebäuden befinden und natürlich mit einem sicheren Verschluss zu versehen sein. Man würde dadurch zugleich den nicht zu unterschätzenden Vortheil erlangen, dass nicht, wie es jetzt gewöhnlich geschieht und wie ich aus eigener Erfahrung weiss, die vorschriftsmässig oder auch vorschriftswidrig vergrabenen Milzbrandcadaver regelmässig von Dieben (oft genug von denselben Leuten,

welche sie am Tage eingeschart haben) des Nachts wieder herausgeholt, zertheilt und überall hin verschleppt werden.

Vielleicht verhindert auch der Einfluss gewisser Bodenarten oder ein gewisser Feuchtigkeitsmangel und tiefer Grundwasserstand die Sporentwicklung, worauf das an bestimmte Gegenden gebundene Vorkommen des Milzbrandes und die Abnahme desselben nach ausgedehnten Meliorationen und Entwässerungen hindeutet.

Der von Buhl berichtete Fall¹⁾, dass Milzbrand unter Pferden auf dem Gestüte Neuhof bei Donauwörth vollkommen aufhörte, als man auf den Rath v. Pettenkofer's den Stand des Grundwassers durch Drainage herabgesetzt hatte, würde gleichfalls hierher gehören.

Auf jeden Fall ist die Möglichkeit, die Entwicklung der Milzbrandsporen zu verhüten, gegeben und das grosse Interesse, welches diese Angelegenheit beansprucht, müsste zu weiteren Versuchen in der angegebenen Richtung auf geeigneten Versuchsstationen dringend auffordern.

Eine Wahrnehmung, welche ich in hiesiger Gegend über das Vorkommen des Milzbrandes gemacht habe, schliesse ich hier noch an, weil dieselbe für die Milzbrandprophylaxis wohl zu berücksichtigen ist. Es ist nämlich auffallend, dass der Milzbrand das ganze Jahr hindurch fast ohne Unterbrechung unter den Schafen herrscht. In den grösseren Heerden fallen fast niemals viele Schafe auf einmal, sondern gewöhnlich einzelne oder wenige in Zwischenräumen von einigen Tagen oder Wochen. Rinder werden weit seltener und nur in grossen Pausen befallen, so dass öfters mehrere Monate, ein halbes Jahr und noch längere Zeit zwischen den einzelnen Fällen liegen. Bei Pferden tritt Milzbrand hier nur ganz ausnahmsweise auf. Es scheint demnach, dass das Schaf das eigentliche Wohnthier des *Bacillus Anthracis* ist und dass er nur unter besonderen Verhältnissen gelegentlich Excursionen auf andere Thierarten macht. Für diese Ansicht spricht auch die Beobachtung von Leonhardt²⁾, dass in Bönstadt, welches sehr viel durch Milzbrand litt, derselbe unter den Rindern fast vollkommen erlosch, nachdem man die Schafe abgeschafft hatte, welche im Sommer massenhaft an Milzbrand fielen. Es folgt aber daraus, dass bei allen Massregeln gegen die Seuche der Milzbrand unter den Schafheerden die meiste Beachtung verdient.

V. *Vergleich des Milzbrandes mit anderen Infections-Krankheiten.* Damit, dass der Milzbrand auf seine eigentlichen Ursachen zurückgeführt wurde, ist es gleichzeitig zum ersten Male gelungen,

¹⁾ Bollinger l. c. p. 455.

²⁾ Bollinger l. c. p. 453.

Licht über die Aetiologie einer jener merkwürdigen Krankheiten zu verbreiten, deren Abhängigkeit von Bodenverhältnissen genügend aufzuklären weder den Anstrengungen der Forschung, noch den kühnsten und verwickeltsten Hypothesen bislang möglich gewesen ist. Es liegt deswegen sehr nahe, einen Vergleich zwischen Milzbrand und den durch ihre Verbreitungsweise ihm nahestehenden Krankheiten, vor Allem mit Typhus und Cholera anzustellen.

Mit Typhus hat der Milzbrand Aehnlichkeit durch die Abhängigkeit vom Grundwasser, durch die Vorliebe für Niederungen, durch das über das ganze Jahr vertheilte sporadische Auftreten und das daneben eintretende Anschwellen der Erkrankungsfälle zur Epidemie im Spätsommer. Die ersten der oben genannten Punkte treffen auch für die Cholera zu; in einer Hinsicht aber stimmt das Contagium der Cholera mit dem des Milzbrandes in so eigenthümlicher Weise zusammen, dass wohl die Annahme eines reinen Zufalls ausgeschlossen werden muss. v. Pettenkofer hat darauf hingewiesen, dass das Cholera-Contagium auf Schiffen, wenn diese kein Land berühren, meist in drei bis vier Wochen abstirbt, nur wenn dasselbe vor dieser Zeit wieder in geeigneten Boden gelangt, vermag sich die Krankheit weiter zu verbreiten. Nehmen wir nun einmal an, dass der Milzbrand eine Krankheit wäre, welche in Indien heimisch ist, und dass von dieser Krankheit befallene Thiere nur nach vier- bis fünfwöchentlicher Seefahrt zu uns gelangen könnten, dann würde gerade so wie bei der Cholera eine Verschleppung auf dem Seewege nicht möglich sein, da sich aus Mangel an feuchtem Boden keine Sporen bilden könnten und die etwa an Gegenständen eingetrockneten Bacillen schon vor Beendigung der Fahrt abgestorben wären. Würden wir noch ferner annehmen, dass der Milzbrand eine Krankheit sei, die nicht durch grosse Bacillen, sondern durch andere ausserordentlich kleine, an der Grenze des Sichtbaren stehende Schizophyten erzeugt werde, welche nicht frei im Blute, sondern (wie die Bacillen in der Pferdemilz) in den weissen Blutkörperchen, in den Zellen der Lymphdrüsen und der Milz versteckt, ihre deletäre Wirkung ausübten, dann müsste man diesen Schizophyten eine noch viel nähere Verwandtschaft mit dem Contagium der Cholera und des Typhus zugestehen. Keine Substanz könnte in der That eine grössere Aehnlichkeit mit dem Contagium dieser Krankheit besitzen, als ein derartiges Milzbrandcontagium.

Bei solchen Betrachtungen regt sich unwillkürlich die Hoffnung, dass auch das Typhus- und Cholera-Contagium in Form von Kugelbakterien oder ähnlichen Schizophyten aufzufinden sein müsse. Dem

stehen jedoch die erheblichsten Bedenken entgegen. Vorausgesetzt nämlich, dass diese Krankheiten von einem belebten Contagium abhängen, so muss angenommen werden, dass dasselbe unsern optischen Hilfsmitteln schwer oder gar nicht zugänglich ist, da viele der geübtesten Mikroskopiker es bis jetzt vergeblich gesucht haben. Sollte ein derartiges Contagium noch gefunden werden, dann würde uns ausserdem, da Typhus und Cholera nicht auf Thiere zu übertragen ist, das einzige Mittel fehlen, um uns stets von der Identität der möglicherweise in ihrer äusseren Gestalt wenig charakteristischen Schizophyten zu überzeugen. Also gerade das, was die Untersuchungen über das Milzbrand-Contagium so einfach und so sicher macht, nämlich die unverkennbare Form der Bacillen und die durch Impfung fortwährend über sie ausgeübte Controle, würden für Typhus und Cholera fehlen. Trotzdem dürfen wir uns durch die für manche Krankheiten vorläufig noch unüberwindlich erscheinenden Hindernisse nicht abschrecken lassen, dem Ziele, so weit als unsere jetzigen Hilfsmittel es zulassen, nachzustreben. Nur darf man nicht, wie bisher, mit dem Schwierigsten beginnen. Erst muss das Naheliegende erforscht werden, was von unseren Hilfsmitteln noch erreicht werden kann.

Durch die hierbei gewonnenen Resultate und Untersuchungsmethoden müssen wir uns dann den Weg zum Ferneren und Unzugänglicheren zeigen lassen. Das vorläufig Erreichbare auf diesem Gebiete ist die Actiologie der infectiösen Thierkrankheiten und derjenigen menschlichen Krankheiten, welche, wie Diphtheritis, auf Thiere übertragen werden können. Diese Krankheiten gestatten uns, die für diese Untersuchungen allein nicht mehr ausreichende Kraft des Mikroskops durch das Thier-Experiment zu ergänzen.

Nur mit Zuhülfenahme einer so gewonnenen vergleichenden Actiologie der Infectionskrankheiten wird es möglich sein, das Wesen der Seuchen, welche das menschliche Geschlecht so oft und so schwer heimsuchen, zu ergründen und sichere Mittel zu finden, um sie fern halten zu können.

Wollstein, Grossherzogthum Posen, 27. Mai 1876.

Figuren - Erklärung.

Tafel XI.

Entwicklungsgeschichte von *Bacillus*.

Fig. 1—7 *Milzbrandbacillen* (*Bacillus Anthracis*).

- Fig. 1. Milzbrand*bacillen* vom Blut eines Meerschweinchens; die *Bacillen* als glashelle Stäbchen, zum Theil mit beginnender Quertheilung oder geknickt, a weisse, b rothe Blutkörperchen (p. 282).
- Fig. 2. Milzbrand*bacillen* aus der Milz einer Maus, nach dreistündiger Cultur in einem Tropfen *Humor aqueus*; in Fäden auswachsend, um das 3—8fache verlängert, zum Theil geknickt und gekrümmt (p. 282).
- Fig. 3. Gesichtsfeld aus dem nämlichen Präparat nach zehnstündiger Cultur; die *Bacillen* in lange Fäden angewachsen, die oft zu Bündeln um einander geschlungen sind; a in einzelnen Fäden erscheinen stärker lichtbrechende Körnchen in regelmässigen Abständen (p. 282).
- Fig. 4. Gesichtsfeld aus dem nämlichen Präparat nach 24stündiger Cultur; a in den Fäden haben sich länglich runde Sporen perlschurartig in regelmässigen Abständen entwickelt; b manche Fäden sind in Auflösung begriffen, die Sporen frei, einzeln oder in Häufchen zusammengeballt (p. 283).
- Fig. 5. Keimung der Sporen; a mit Hartnaeck 9 Imm. von Koch, b mit Seibert VIII. Imm. von Cohn gezeichnet (vgl. p. 289). Die Spore verlängert sich in ein walzenförmiges Körperchen, die stark lichtbrechende Masse bleibt an einem Pole liegen, wird kleiner, zerfällt in 2 oder mehr Particen und ist schliesslich ganz verschwunden.
- Fig. 6. Darstellung der Cultur der Milzbrand*bacillen* in einem hohlgeschliffenen, mit einem Deckglas bedeckten, vermittelst Olivenöl ringsum luftdicht abgeschlossenen und durch einen heizbaren M. Schultze'schen Objecttisch auf Blutwärme erhitzten Objectträger; Natürl. Grösse. Die *Bacillen* befinden sich in einem Tropfen von frischem *Humor aqueus*; schon mit blossen Augen erkennt man die von der Stelle der Aussaat in den Tropfen hineingewucherten, leicht flottirenden äusserst feinen Fadenmassen (p. 284).

- Fig. 7. Gesichtsfeld aus der Umhüllungsschicht eines unter die Rückenhaut eines Frosches gebrachten Stückchens von der Milz einer milzbrandigen Maus; die Schicht besteht aus grossen, kernhaltigen Zellen a; in einzelnen Zellen sind mehrere kurze, etwas geknickte oder gekrümmte, zu Haufen vereinigte oder spiralig gedrehte *Bacillen* (b) aufgenommen, welche in den Zellen weiter wachsen und diese zuletzt sprengen; c zusammengefallene Zellmembranen, g freigewordene *Bacillenspiralen*; e Blutkörperchen des Frosches; auch unveränderte *Bacillen* sind sichtbar (p. 301).

Fig. 8—10 **Heubacillen** (*Bacillus subtilis*).

- Fig. 8. *Bacillen* in lange, parallel neben einander gelagerte Fäden ausgewachsen, welche ein irisirendes Häutchen auf der Oberfläche eines gekochten Heuaufgusses nach 24—48 Stunden bilden; in den Lacunen der Parallelreihen findet man noch bewegliche kurze (b) oder in Verlängerung begriffene Stäbchen (a) (p. 262).
- Fig. 9. Sporenbildung in den gegliederten Fäden der *Heubacillen* nach 3 Tagen (p. 263).
- Fig. 10. *Bacillus*fäden bündelweise durch Schleim verbunden und zu krausen Schleimflocken gruppiert; am linken Ende der Zeichnung beginnt die Bildung der Sporenketten in den Fäden (p. 263).
- Fig. 11. Fragment eines Schleimbündels, in welchem sich die Bildung der Sporenketten vollendet und die einzelnen *Bacillus*fäden undeutlich geworden, die Sporen aber noch in parallelen Reihen geordnet und durch Schleim zusammengehalten erscheinen (p. 264).

Die Figuren 1—7 sind nach *Milzbrandbacillen* (*Bacillus Anthracis*) von Dr. Koch, Fig. 8—11 nach *Heubacillen* von Prof. Cohn gezeichnet; vergl. übrigens p. 275. Vergrösserung von 1—7, 8 u. 10 = 650 (gezeichnet mit Hartnack Immers. IX), von 5b u. 9 Vergr. 1650 (gezeichnet mit Seibert Immers. VIII), von 11 Vergr. 900 (Seibert VI.).



ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Beiträge zur Biologie der Pflanzen](#)

Jahr/Year: 1876

Band/Volume: [2_2](#)

Autor(en)/Author(s): Koch R.

Artikel/Article: [Untersuchungen über Bacterien 277-310](#)